



光刺激機能を備えたチューブ形状神経電極の開発

著者	玉置 俊輔
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第16540号
URL	http://hdl.handle.net/10097/60688

氏名（本籍地）	たまき しゅんすけ 玉置 俊輔
学位の種類	博士（医工学）
学位記番号	医工博 第36号
学位授与年月日	平成27年 3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科、専攻	東北大学大学院医工学研究科（博士課程）医工学専攻
学位論文題目	光刺激機能を備えたチューブ形状神経電極の開発
論文審査委員	（主査）東北大学 教授 芳賀 洋一 東北大学 教授 田中 徹 東北大学 教授 松浦 祐司

論文内容の要旨

第1章 序論

近年、脳と機械をつなぐことで失った機能を取り戻す BMI（Brain Machine Interface）技術の活用が試みられている。しかしながら、脳の解明は十分になされていない。この課題を解決するための一つとして、脳でどのように情報伝達をしているかを解明する事が必要である。

脳では神経細胞と呼ばれる細胞同士の間で電気信号のやりとりをする回路を構築し、情報を伝達処理している。この回路の構成と機能を解明するため、脳に刺入し、高い時空間分解能で同時に多数の神経細胞活動を電氣的に計測できる神経電極が開発されている。

神経電極には二つの機能を備えていることが望まれる。

一つ目として、神経電極を刺入する際、計測対象である脳を覆う硬い膜、硬膜を刺入できる剛性があることが望まれる。硬膜刺入性を持たせることで、硬膜を大きく除去することによる感染のリスク、ダメージを抑えることができる。

二つ目として、局所の神経回路を解明するため、特定の神経細胞を刺激することができる機能を備え、またその反応をみるための記録部を刺激部近傍に複数備えていることが望まれる。近年、神経細胞に光感受性のタンパクを一部の神経細胞に発現させることで、より選択的に刺激できる手法が試されており、この手法に対応した光刺激部を記録部近傍に併せて有している神経電極が開発されている。刺激部の多点化のため光ファイバを複数本実装した神経電極が提案されている。しかしながら、この手法では多点化していく程、細径化あるいは所望の位置に設置することが難しくなる。一方で光導波路を用いた神経電極開発がなされている。光導波路による手法は光ファイバと比較して形状の自由度が高いが、光導波路と光ファイバのカップリングロス、および伝送損失によって光刺激強度が不十分となることがある。

そこで本研究では、十分な刺激強度を維持しながら多点の深さ位置で光刺激および刺激による神経細胞の活動計測を可能とし、かつ硬膜除去処置不要が不要な刺入性を有した神経電極を開発する。そのため、1本の光ファイバでさまざまな深さ位置を刺激でき、硬膜を刺入できる刺入性および剛性を付与した神経電極を開発することを目的とした。

第2章 多点位置光刺激機能を備えた神経電極

硬膜を刺入できる剛性、3点の光刺激部および多点記録部を備えた神経電極を開発した。1本の光ファイバでさまざまな深さ位置で刺激するため、内腔を持つチューブ形状を基板とし、チューブ材質はフォトファブリケーション技術を容易に適用できるポリイミドを用いた。ポリイミドは比較的柔軟な素材なためチューブ単独では硬膜に刺入できない。そこで、チューブ内腔に金属針を挿入することで剛性の付与、および光ファイバの移動する空間とした。また金属針に溝を形成し光ファイバを設置することで光刺激機能を付与した。光ファイバ先端は斜めに切断し、切断面にミラーとなる金属を成膜することで長軸方向と直交する方向に光を照射する。ポリイミドが内腔の光ファイバの光を遮蔽するため、光照射窓としてポリイミドチューブの一部を除去し、3箇所の窓を形成している。また、刺激した際の神経細胞の反応をみるための記録部を8点、チューブ表面に長軸方向に等間隔で配置している。チューブ内に設置する光ファイバ付き金属針は光照射窓がある方向と照射方向が一致するように設置した。

神経電極全体はマイクロメータヘッド、チューブ電極部、光ファイバを固定するためのジグで構成されている。チューブ内に設置した光ファイバ付きの金属針はマイクロメータヘッドの回転に連動して移動する構造となっている。これにより記録部を移動させず3点のうち所望の位置で光刺激を行うことができる。

チューブ表面に記録部を作製するため、非平面フォトファブリケーション技術によりパターンニングを行った。回転機構を備えたスパッタリング装置、スプレーコータ、点描画露光装置を用いてパターンニングを行い、Nd:YAGレーザを用いたアブレーションにより光照射窓を形成した。

作製した神経電極はマイクロメータヘッドの移動により所望の光照射窓に光ファイバを移動させることができた。また、作製した光ファイバは長軸方向と直交する方向に光を照射することができ、マイクロメータヘッドの回転によりそれぞれの照射窓位置で光を照射することができ、光ファイバ先端における光強度は光感受性のタンパクであるchannelrhodopsin-2(ChR2)を励起するのに十分な強度であった。またチューブ表面に作製した記録部は神経細胞活動を計測するのに十分な電気的特性を備えていた。

作製した神経電極を*In vivo*で評価した。硬膜を残した状態で、麻酔下のChR2を発現させたラットを用いて神経電極を刺入できるか、光による刺激および神経細胞の活動を計測できるかを評価した。刺入時に挿入抵抗によりわずかに脳の陥没がみられたが、記録部の破損なく硬膜を残した状態のラットに神経電極を刺入することができた。また刺入後、3点の照射部でそれぞれ刺激を行いながら神経細胞の反応を計測した結果、それぞれの位置で光による刺激に呼応する神経細胞にイオンの流入を示す神経細胞の反応を計測することができた。これより光刺激により神経細胞の刺激ができていたことを示した。さらに光刺激による刺激箇所周辺の神経細胞の反応とその神経細胞の反応により引き起こされる、他の層における神経細胞の活動を計測することができた。これらの結果は皮質の浅層、中層、深層の刺激および刺激した際のそれぞれの層間での神経回路の構成を計測することができたことを示している。

以上のことから、提案し作製した神経電極が硬膜を刺入できる剛性を備え、皮質の浅層、中層、深層での光刺激による神経細胞の反応を計測できたことから皮質の浅層、中層、深層の神

神経細胞のつながりをみることができる神経電極であることを示した。

第3章 任意位置での光刺激機能を備えた神経電極

2章で3点の深さ位置で刺激ができる神経電極を作製し、評価を行った結果十分な有用性を示した。さらなる刺激位置の自由度、あるいは *In vivo* 評価中に所望の位置で刺激できる神経電極の開発を目的とした。

光透過性のある透明なチューブを用いることにより、光照射窓位置に制限されず、自由な位置で光刺激を行うことができる構成とした。基板材料として高い生体適合性、フォトファブリケーション技術の利用ができ、刺激に用いられる波長において高い光透過性を示すポリパラキシリレン（パリレン）を用いた。2章の神経電極同様、チューブ内の光ファイバを移動することで任意位置の刺激が可能となる。2章で述べた神経電極はポリイミドが光を遮蔽することから光照射窓部でのみ刺激が可能であったが、透明基板を用いることで位置の制限なく刺激をすることができる。

チューブ表面には2章の神経電極同様、刺激した際の神経細胞の反応をみるための記録部を8点、チューブ表面に長軸方向に等間隔で配置している。また、2章と同様硬膜刺入性付与のための金属針に溝を形成し、横方向に光を照射することができる光ファイバを溝に配置することで光刺激をできる構造にした。光ファイバから出射した光が記録部の金属部に当たり光電効果が生じることを防ぐため、光照射はチューブの金属部が配置されていない方向に行った。光ファイバをチューブ内腔で精度よく移動させるため、マイクロメータヘッドを取り付けており、この目盛により光ファイバの深さ位置を制御する。

記録部を有した透明チューブを形成するため金属針にレジストの成膜を行い、パリレンを成膜した。記録部のパターンニングを行った後、パリレンを成膜し更にその上に記録部のパターンニングを行いパリレンの成膜を行った後、記録部および先端部および後端部のパリレンを除去しレジストを溶解し金属針を抜くことで作製した。チューブ表面に作製した記録部は神経細胞活動を計測するのに十分な電気的特性を備えていた。また、パリレンチューブ内に設置した光ファイバ先端における光強度はパリレンにより光が減ぜられたがChR2を励起するのに十分な強度であった。またこの際、光の照射による光電効果はみられなかった。

作製した神経電極を *In vivo* で評価を行った。麻酔下、硬膜を残した状態のラットで刺入できるかについて評価の結果、2章の神経電極同様、硬膜を残した状態では脳の陥没がみられたが記録部の破損なく、神経電極を刺入することができた。また、麻酔下、硬膜を一部除去したChR2を発現させたラットを用いて、光による刺激および神経細胞の活動を計測できるかを評価したところ、ChR2を発現させたラットを用いた評価では、脳の陥没はみられず刺入することができ、16点、100 μm 間隔で刺激位置を変更し、それぞれの位置で刺激を行いながら神経細胞の反応を計測した。実験の結果、それぞれの刺激位置近傍で神経細胞にイオンの流入があったと考えられる光による刺激に呼応する神経細胞の反応を計測することができた。さらに光刺激による刺激箇所周辺の神経細胞の反応とその反応により引き起こされる他の神経細胞の活動を計測することができた。任意の深さ位置で刺激ができたことより、皮質で形成している層構造それぞれの層を刺激することができ、また、刺激により引き起こされる全層の神経細胞の反応をみる

ことができた。この結果からそれぞれの層の神経細胞が構築している神経回路の解明に寄与することができると考えられる。

以上のことから、提案し作製した神経電極が硬膜を刺入することができる剛性を備え、所望の深さ位置の光刺激により神経細胞を刺激、その反応を計測でき皮質で形成している層間での神経細胞のつながりをみることができることを示せた。

第4章 考察

2章および3章で提案し作製した神経電極の結果をまとめて考察を行った。Beltramoらは光感受性を有した機能タンパクを皮質の層別に発現させることで刺激深さの制御を行い、層間での神経細胞のつながりをみていたが、本論文では層別での機能タンパクの発現を行うことをせずに、同等の結果を得られた。

また、硬膜を残した状態で刺入できる剛性を備えていたが、挿入抵抗により脳の陥没がみられた。この挿入抵抗の原因を探るための追加実験結果を基に、特に挿入抵抗の増大につながったと考えられるチューブの先端形状の変更とその作製方法を提案した。

第5章 結論

本論文で得られた結果を総括し結論を述べた。神経回路の解明、電気生理学の発展のため、硬膜刺入性、多点での光刺激機能を備えた神経電極の開発を行った。さまざまな刺激位置で光刺激でき、刺激場所の違いにより、脳の神経回路の構成に起因する異なる神経細胞の活動を観察することができ、脳の層方向の神経細胞の関係性を調べることに有用であると考えられた。本論文で提案した神経電極により神経回路の解明、電気生理学の発展に寄与することを期待する。